

## 11 鉄試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

高橋伸英<sup>1</sup>, 鈴木知華<sup>2</sup>, 佐々木徳幸<sup>2</sup>

**キーワード** クライテリア・アプローチ, 鉄, フレイム原子吸光法, 肥料等試験法

### 1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)<sup>1)</sup>の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン<sup>2)</sup>には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法<sup>3)</sup>に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)<sup>4)</sup>の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 効果発現促進材として使用量を表示する<sup>5)</sup>水溶性鉄(W-Fe)のフレイム原子吸光法の精確さ等の性能を調査したので報告する.

### 2. 材料及び方法

#### 1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には鉄が含まれているおそれがあることから, 試料の調製には表 1 のとおり, できる限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級等を用いた. 流通している肥料の配合割合を参考にして, 表 2 のとおり試薬を混合し, 鉄(Fe)として質量分率 0.01 % ~ 10 % 含有する試料を調製した. さらに, 試薬を水に溶解して鉄(Fe)として質量分率 0.001 % ~ 1 % 含有する試料を調製した.

#### 2) 装置及び器具

- (1) 原子吸光分析装置: 日立ハイテクノロジーズ Z-2310
- (2) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC 東洋 恒温回転振とう機 THM062FA

<sup>1</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター (現)肥飼料安全検査部

<sup>2</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

表1 試料の調製に使用する試薬

使用する試薬		対応する原材料名	
名称	規格	名称又は種類名(材料)	慣用名
硫酸アンモニウム	JIS K8960 特級	硫酸アンモニア	硫安
りん酸水素二アンモニウム	JIS K9016 特級	りん酸アンモニア	DAP
塩化カリウム	JIS K8121 特級	塩化加里	塩加
炭酸カルシウム	JIS K8617 特級		
EDTA鉄(III)	試験研究用	効果発現促進材	

表2 試験に用いた試料の配合割合

(質量分率 %)

使用する試薬	真度評価用試料						定量下限確認用試料	
	Fe-10 <sup>1)</sup>	Fe-0.5 <sup>1)</sup>	Fe-0.05 <sup>1)</sup>	Fe-1 <sup>2)</sup>	Fe-0.1 <sup>2)</sup>	Fe-0.01 <sup>2)</sup>	Fe-0.01 <sup>1)</sup>	Fe-0.001 <sup>2)</sup>
硫酸アンモニウム	11.400	11.400	11.400	11.400	11.400	11.400	11.400	11.400
りん酸水素二アンモニウム	7.450	7.450	7.450	7.450	7.450	7.450	7.450	7.450
塩化カリウム	5.000	6.330	6.330	6.330	6.330	6.330	6.330	6.330
炭酸カルシウム	0.745	71.050	74.443				74.745	
EDTA鉄(III)	75.401	3.770	0.3770	7.540	0.754	0.075	0.075	0.0075
水				67.280	74.066	74.745		74.813
Fe含有量	10	0.5	0.05	1	0.1	0.01	0.01	0.001

1) 粉状肥料

2) 液状肥料

### 3) 試薬の調製

(1) 水: 水精製装置(MERCK ELIX ESSENTIAL5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。

(2) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級試薬を使用した。

(3) 鉄標準液(Fe 0.1 mg/mL): 鉄標準液(Fe 100 mg/L)(和光純薬工業;JCSS)を使用した。

(4) 検量線用鉄標準液: 鉄標準液(Fe 0.1 mg/mL)を段階的にとり、最終希釈液に調製する容量の 1/4 容量の塩酸(1+5)をそれぞれ加え、水で希釈して検量線用鉄標準液(Fe 0.05 µg/mL~6.0 µg/mL)を多段階調製した。

(5) 検量線用空試験液: 塩酸(1+5)を一定量とり、水で4倍に希釈した。

### 4) 試験成分及び試験方法

水溶性鉄(W-Fe)の抽出及び測定は表3のとおり肥料等試験法<sup>3)</sup>の試験方法を用いた。なお、参考のため、試験法のフローシートを図1に示した。

表3 試験成分及び試験方法

試験成分	肥料等試験法の項目	試料溶液の調製方法
水溶性鉄(W-Fe)	4.13.1.a フレーム原子吸光法	(4.1) 水回転振とう

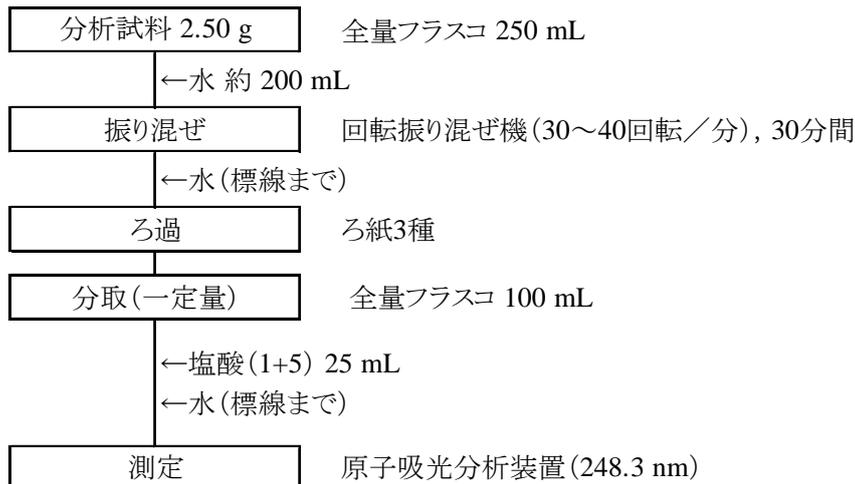


図1 水溶性鉄試験法フローシート

### 3. 結果及び考察

#### 1) 試料の調製に用いた EDTA 鉄(Ⅲ)中の鉄の含有量

試料の調製に用いる EDTA 鉄(Ⅲ)中の鉄含有量を肥料等試験法(水溶性鉄)により 3 点併行で測定した結果を表 4 に示した. 平均値より算出した純度は質量分率 100.5 % と試薬の表示値 (min. 98.0 %) を満たしており, その相対標準偏差は 0.49 % と小さかった. このことから, 試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った.

表4 試料の調製に用いたEDTA鉄(Ⅲ)中の鉄の測定値

試料	理論値 <sup>1)</sup>	平均値 <sup>2)</sup>	標準偏差	理論値に対する割合 <sup>3)</sup>	相対標準偏差
	(%) <sup>4)</sup>	(%) <sup>4)</sup>		(%) <sup>4)</sup>	
EDTA鉄(Ⅲ)	13.26	13.33	0.07	100.5	0.49

1) EDTA鉄(Ⅲ)の鉄(Fe)理論値

2) 3点併行試験の平均値

3) (平均値/理論値)×100

4) 質量分率

#### 2) 真度評価試験

真度評価用試料を用いて 3 点併行で水溶性鉄(W-Fe)の試験を実施した成績を表 5 に示した.

農林水産省告示<sup>5)</sup>において, 効果発現促進材の使用量等は家庭園芸用肥料以外の普通肥料にあつては, 保証票に表示することが義務づけられている. 鉄(Fe)については, 効果発現促進材として液状肥料での使用も多いため, 粉状試料と液状試料について調査を行い, 水溶性鉄(W-Fe)の回収率及び理論値と測定値との差の割合について算出した. 粉状試料である Fe-10, Fe-0.5 及び Fe-0.05 の回収率は 101.1 % ~ 107.0 % であり, Fe-10, Fe-0.5 及び Fe-0.05 の理論値と測定値との差の割合は, 1.1 % ~ 7.0 % であつた. 液状試料である Fe-1, Fe-0.1 及び Fe-0.01 の回収率は 103.6 % ~ 105.7 % であり, Fe-1, Fe-0.1 及び Fe-0.01 の理論値と測定値との差の割合は, 3.6 % ~ 5.7 % であつた. このことから, この試験法は, 普通肥料(家庭園芸用肥料以外)の水溶性鉄

(W-Fe)の表示値の評価を得るに十分な正確さを有していることが確認された。

なお、AOAC<sup>6)</sup>における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 10 %で 95 %～102 %，質量分率 0.1%で 90 %～108 %及び質量分率 0.01 %で 85 %～110 %であり，水溶性鉄 (W-Fe)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中の水溶性鉄(W-Fe)の試験成績

試験成分	試料	理論値	測定値	理論値と の差	差の割合	回収率	標準偏差	相対 標準偏差
		A <sup>1)</sup> (%) <sup>2)</sup>	B <sup>3)</sup> (%) <sup>2)</sup>	C <sup>4)</sup> (%) <sup>2)</sup>	D <sup>5)</sup> (%)	E <sup>6)</sup> (%)	F <sup>7)</sup> (%) <sup>2)</sup>	G <sup>8)</sup> (%)
W- Fe	Fe-10	10	10.11	0.11	1.1	101.1	0.06	0.6
	Fe-0.5	0.5	0.5138	0.01	2.8	102.8	0.001	0.2
	Fe-0.05	0.05	0.0535	0.0035	7.0	107.0	0.0018	3.3
	Fe-1	1	1.036	0.036	3.6	103.6	0.002	0.2
	Fe-0.1	0.1	0.1057	0.0057	5.7	105.7	0.001	0.6
	Fe-0.01	0.01	0.01051	0.00051	5.1	105.1	0.000052	0.5

1) 試料中の水溶性鉄(W-Fe)の含有量(理論値)

2) 質量百分率

3) 3点併行試験の平均値

4)  $C=B-A$

5)  $D=(C/A) \times 100$

6)  $E=(B/A) \times 100$

7) 3点併行試験の標準偏差

8)  $G=(F/B) \times 100$

### 3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表 2)を用いて 7 点併行で水溶性鉄(W-Fe)の試験を実施した結果を表 6 に示した。なお、定量下限は(標準偏差) $\times 10$ 式，また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ 式を用いて算出した<sup>7)</sup>。

AOAC<sup>6)</sup>における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.01 %で 85 %～110 %及び質量分率 0.001 %で 80 %～115 %であり，参考のため比較したところ水溶性鉄(W-Fe)の粉状試料である Fe-0.01 及び液状試料 Fe-0.001 のいずれも回収率は許容範囲内であった。Fe-0.01 の推定定量下限値は質量分率 0.004 %，推定検出下限値は質量分率 0.001 %であり，Fe-0.001 の推定定量下限値は質量分率 0.0004 %，推定検出下限値は質量分率 0.0002 %であると評価できた。

表6 定量下限確認試験の成績

試験成分	試料	理論値 <sup>1)</sup>	平均値 <sup>3)</sup>	回収率 <sup>4)</sup>	標準偏差	推定定量 下限値 <sup>5)</sup>	推定検出 下限値 <sup>6)</sup>
		(%) <sup>2)</sup>	(%) <sup>2)</sup>	(%)	(%) <sup>2)</sup>	(%) <sup>2)</sup>	(%) <sup>2)</sup>
W- Fe	Fe-0.01 <sup>7)</sup>	0.01	0.0099	99.5	0.0004	0.004	0.001
W- Fe	Fe-0.001 <sup>8)</sup>	0.001	0.00108	108.2	0.00004	0.0004	0.0002

1) 試料中の鉄(Fe)の含有量(理論値)

2) 質量分率

3) 7点併行試験の平均値

4) (平均値/理論値)×100

5) 標準偏差×10

6) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

7) 粉状試料

8) 液状試料

#### 4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、既報の外部精度管理試験<sup>8)</sup>のうち該当する試験法で実施された成績<sup>9)</sup>を適用することとし、それらの成績を表7に示した。なお、外部精度管理試験では、ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差(NIQR)が算出されている。中央値及びNIQRは正規分布において平均値及び標準偏差に一致する。

液状複合肥料を用いて行われた外部精度管理試験の水溶性鉄(W-Fe)の中央値は質量分率 0.240 %で、ロバスト標準偏差(NIQR)は質量分率 0.013 %、その室間再現相対標準偏差は 5.4 %であった。また、水溶性鉄(W-Fe)の試験成績の HorRat 値は 1.09 であった。

なお、AOAC(OMA)<sup>6)</sup>における濃度レベル質量分率 1 %及び 0.1 %における室間再現精度の目安は 4 %及び 6 %であり、参考のため比較したところ水溶性鉄(W-Fe)の室間再現相対標準偏差はこれらの目安を下回った。

表7 外部精度管理試験成績

試験成分	試料の種類	試験 年度	試験 室数	中央値	NIQR	RSD <sub>R</sub>	PRSD	HorRat値
				A <sup>1)</sup> (%) <sup>2)</sup>	B <sup>3)</sup> (%) <sup>2)</sup>	C <sup>4)</sup> (%)	D <sup>5)</sup> (%)	E <sup>6)</sup>
W-Fe	液状複合肥料	2012	86	0.240	0.013	5.4	5.0	1.09

1) 中央値

2) 質量分率

3) ロバスト標準偏差(NIQR)

4) 室間再現相対標準偏差  $C = (B/A) \times 100$

5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差

6) HorRat値  $E = C/D$

#### 4. まとめ

水溶性鉄(W-Fe)のフレーム原子吸光法の真度、定量・検出下限を調査したところ、次の結果を得た。

(1) 鉄(Fe)として質量分率 0.05 %～10 %含有する粉状試料についての水溶性鉄(W-Fe)の測定結果は、

回収率が 101.1 %～107.0 %であり、理論値と測定値との差の割合は、1.1 %～7.0 %であった。

(2) 水溶性鉄(W-Fe)として質量分率 0.01 %～1 %含有する液状試料についての水溶性鉄(W-Fe)の測定結果は、回収率が 103.6 %～105.7 %であり、理論値と測定値との差の割合は、3.6 %～5.7 %であった。

(3) 水溶性鉄(W-Fe)として質量分率 0.01 %含有する粉状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率 0.004 %、0.001 %程度と推定された。

(4) 水溶性鉄(W-Fe)として 0.001 %含有する液状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率 0.0004 %、0.0002 %程度と推定された。

(5) 外部精度管理試験より室間再現精度を調査したところ、液状複合肥料中の水溶性鉄(W-Fe)は、中央値が質量分率 0.240 %でロバスト標準偏差(NIQR)は質量分率 0.013 %、その室間再現相対標準偏差は 5.4 %であった。

(1)～(5)の成績は、肥料等試験法に記載された試験法が効果発現促進材として使用量を表示する水溶性鉄(Fe)の含有量を評価することができる性能を有していることを示しており、クライテリア・アプローチのガイドラインの水溶性鉄(W-Fe)試験法の性能規準を作成する際に、これらの試験成績は十分に参考になると考えられた。

## 文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)  
<[ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual\\_20e.pdf](http://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf)>
- 3) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC): 肥料等試験法  
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 農林水産省告示: 肥料取締法施行規則第十一条の二第一項及び第二項の規定に基づき原料及び材料の保証票への記載に関する事項を定める件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 700 号, 最終改正平成 26 年 9 月 1 日, 農林水産省告示第 1148 号 (2014)
- 6) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
- 7) Codex“Guideline on Analytical Terminology”,CAC/GL 72-2009(2009)
- 8) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 9) 舟津正人, 渡辺絵里菜, 阿部 進, 白井小枝, 稲葉茂幸, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2012 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **6**, 61～83 (2013)

## Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Iron in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Shinei TAKAHASHI<sup>1</sup>, Chika SUZUKI<sup>2</sup> and Noriyuki SASAKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center  
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

<sup>2</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

We verified performance characteristics of testing method for water-soluble iron (W-Fe) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of iron was assured from 3 replicate determinations of 6 fertilizer samples containing 0.01 % ~ 10 % iron which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 101.1 % ~ 107.0 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.004 % and 0.0004 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of iron.

*Key words* criteria approach, iron, atomic absorption spectrometry, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, 7, 131~137, 2014)